□ 원 저 □

당뇨병 환자에서 혈장 Thrombin-Antithrombin III 및 Plasmin-α_2-Plasmin Inhibitor 복합체의 임상적 의의

연세대학교 의과대학 내과학교실

김경욱·김은숙·정상수·윤수지·박우일·이준희·남수연·안철우·문병수
김경래·차봉수·송영득·임승길·이현철·허갑범

Significance of Plasma Thrombin-Antithrombin III and Pasmin-α_2-Plasmin Inhibitor Complexes in Diabetic Patients

Kyung-Wook Kim, M.D., **Un-Suk Kim,** M.D., **Sang-Su Chung,** M.D., **Soo-Jee Yoon,** M.D., **Wook Il Park,** M.D., **Jun-Hee Lee,** M.D., **Su-Youn Nam,** M.D., **Chul-Woo Ahn,** M.D., **Byung-Soo Moon,** M.D., **Kyung-Rae Kim,** M.D., **Bong-Soo Cha,** M.D., **Young-Duk Soung,** M.D., **Sung-Kil Lim,** M.D., **Hyun-Chul Lee,** M.D., **Gap-Bum Huh,** M.D.

Department of Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

- Abstract -

Background: Abnormality of coagulation and fibrinolytic system is known as a predisposing factor of vascular complication in diabetes. Although the pathogenesis is not well known, non-enzymatic glycation reaction and the increase in production of free radicals due to an increased oxidative stress may be linked to the hypercoagulibility and hypofibrinolytic activity. As indices of abnormality in coagulation and firinolysis in peripheral blood, plasma thrombin-antithrombin III complex (TAT) and plasmin-α_2-plasmin inhibitor complex (PIC) were measured. The purpose of this study was to clarify whether hypercoagulability exists in diabetic patients with or without vascular complication.

Methods: In our study, we measured plasma thrombin-antithrombin III complex (TAT) and plasmin-α_2-plasmin inhibitor complex (PIC) in 101 diabetic subjects and 20 controls. Comparing TAT and PIC levels in diabetic microvascular complication group, diabetic macrovascular complication group and controls, we examined correlation between risk factors associated with diabetic vascular complication.

Results: 1. The group with diabetic vascular complication was older than group without complication. There was no significant difference in BMI, blood pressure,

접수일자: 2001년 2월 8일, 통과일자: 2001년 9월 14일, 책임저자: 김경욱, 연세대학교 의과대학 내과학교실
* 본 연구는 연세대학교 강사 연구비의 지원으로 이루어졌음.

HbA_{1c}, blood sugar level, insulin, C-peptide, serum creatinine, total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, Lp(a) between two groups. The group with diabetic microvascular complication had longer duration of diabetes.
2. Concentration of TAT and PIC were 2.8±1.2 ng/mL, 240.4±69.7 ng/mL in controls and 9.5±22.6 ng/mL, 472.2±258.7 ng/mL in diabetic patients, respectively. TAT and PIC were significantly higher in diabetic patients than in control ($p<0.001$). But TAT/PIC ratio was no significant difference between two groups.
3. In diabetic patients, concentration of TAT and PIC and fibrinogen were respectively 4.1±2.4 ng/mL, 362.2±272.0 ng/mL, 322.7±102.4 mg/dL in group without vascular complication and 5.3±4.1 ng/mL, 529.5±258.7 ng/mL, 374.9±106.2 mg/dL in group with microvascular complication, which group had increase in PIC and Fibrinogen but no significance after correction of age. Concentration of TAT and PIC and Fibrinogen were 6.0±4.9 ng/mL, 507.4±321.6 ng/mL, 427.1±194.7 mg/dL in macrovascular complication, and 10.4±6.7 ng/mL, 484.8±269.7 ng/mL, 388.4±132.4 mg/dL in combined vascular complication which group showed increase of TAT but also had no significant increase after correction of age.
4. In diabetic microvascular complication patients, group of high HbA_{1c} (>8%) ($p=0.049$) had significant high PIC concentration. In diabetic macrovascular complication patients, group of high HbA_{1c} (>8%) ($p=0.042$) had significant high total cholesterol concentration.
5. In all diabetic patients, PIC was positively correlated with fibrinogen and HbA_{1c} and negatively correlated BMI ($r=0.47$, 0.31, -0.25). Only in daibetic patients without angiopathy, TAT was positively correlated with HbA_{1c} ($r=0.67$).
Conclusion: In this study, plasma TAT and PIC concentration significantly increased in diabetic patients compared with controls, and PIC was increased in group with microvascular complication, TAT were increased in group with combined micro-macrovascular complication. However, there was no significance relationship existed when correctinf for age. PIC was correlated with HbA_{1c}. TAT was correlated with HbA_{1c} only in the group without angiopathy. Abnormality of coagulation and fibrinolysis were combined in diabetes, plasma TAT and PIC can be used as an index of vascular complication. Also we found the correlation with the degree of the blood glucose control. Therefore we need follow up study for the possibility of prevention of vascular complication after controlling the blood glucose to age-matched patients **(J Kor Diabetes Asso 25:354 ~ 363, 2001).**

Key Words: Diabetes mellitus, Thrombin-antithrombin III, Plasmin-α_2 plasmin inhibitor complexes, Fibrinogen

서 론

최근 생활 수준의 향상으로 식생활의 서구화 및 운동량의 부족으로 제2형 당뇨병의 유병률이 급속도로 증가하고 있으며, 이에 따른 합병증으로 생활의 질이 크게 위협받고 있다. 당뇨병의 만성합병증은 신증, 망막병증, 신경병증 등의 미세혈관 합병증과 죽상경화증에 의한 관상동맥질환, 뇌혈관질환 및 말초혈관질환

등과 같은 대혈관 합병증으로 구분할 수 있다. 당뇨병 환자는 정상인에 비해 관상동맥 질환의 빈도가 약 2배 높고 말초혈관 질환이 약 3배 이상이며[1], 4명 중 3명이 이러한 혈관 질환의 부작용으로 사망하는 것으로 보고되고 있다[2]. 현재 당뇨병 환자에서 이러한 혈관합병증이 생기는 기전에 대한 다각적인 연구가 진행되고 있으나 아직 정확하게 규명되지 않은 상태이다. 지금까지 당뇨병의 혈관 합병증을 일으키는 기전으로는 고혈당, 지질대사 이상, 고인슐린혈증, 고혈압, 혈액 응고 기전의 변화 및 여러 사이토카인과 혈관 활성 호르몬 등의 여러 원인에 의한 것으로 알려져 있으며 응고항진이나 섬유소 용해능의 저하 역시 중요한 요인으로 생각되고 있다[3,4]. 이런 현상의 기전으로 고혈당으로 인한 혈장 단백질들의 비효소성 당화 작용이 응고항진이나 섬유소 용해 활성의 저하를 유발하는 것으로 생각되고 있다. 최근 응고 및 용해인자와 그 억제자의 복합체들의 증가가 이 상태를 비교적 예민하게 반영한다고 알려져 있다. 이에 본 연구에서는 당뇨병 환자군과 정상 대조군에서 혈장내 thrombin-antithrombin III complex (TAT)와 plasmin-α_2-plasmin inhibitor complex (PIC)를 측정하여 비교하고, 당뇨병 환자에서 미세혈관 합병증과 대혈관 합병증의 유무에 따른 차이와, 이미 혈관 질환의 위험인자로 알려져 있는 인자들간의 상관성을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자와 연구 방법

정상 대조군과 당뇨병 환자군을 대상으로 하여 연령, 체질량지수, 당뇨병의 유병기간, 혈관 합병증의 유무에 대한 평가를 시행하고 당화혈색소, 공복혈당 및 인슐린과 C-peptide, PT, aPTT, 혈청 총콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤, Lp(a), fibrinogen, protein C, thrombin-antithrombin III complex (TAT)와 plasmin-α_2-plasmin inhibitor complex (PIC)의 농도를 측정하여 이들간의 연관성에 대해 분석하였다.

2. 당뇨병 합병증에 대한 평가

안저검사 또는 형광안저촬영 등으로 당뇨병성 망막증 유무와 24시간 소변 검사에서 알부민 30 mg/day 이상으로 당뇨병성 신증 유무와 그 증상과 신경 전도 검사를 통해 당뇨병성 신경 합병증 유무를 조사하여 미세혈관 합병증에 대한 평가를 시행하였다.

또한, 심근경색의 과거력과 심전도, 운동부하검사, 관상동맥촬영 (말초혈관촬영 포함) 등을 종합하여 관상동맥질환, 말초혈관질환 등의 유무와 뇌졸중의 과거력과 뇌전산화단층촬영, 뇌자기공명촬영 검사를 통해 뇌혈관질환의 유무를 조사하여 대혈관 합병증에 대한 평가를 시행하였다.

3. 생화학적 검사 방법

모든 대상군에 대해 당화혈색소, 공복혈당 및 인슐린과 C-peptide, PT, aPTT, 혈청 총콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤, Lp (a), fibrinogen, protein C, thrombin-antithrombin III complex (TAT)와 plasmin-α_2-plasmin inhibitor complex (PIC)의 농도를 측정하였다.

일본 Hitach사의 자동 분석기를 이용하여 총콜레스테롤은 chosterol oxidase enzymatic method로, 중성지방은 glycerol oxidase enzymatic method로, HDL-콜레스테롤은 dextran sulfate-$MgCl_2$ precipitation method로 측정하였다. Lp (a)는 Immuno사의 Immunozym Lp (a) kit (IMMUNO GMBH, Heidelberg, Swiss)를 이용하여 측정하였고, fibrinogen은 fibrinogen reagent (Diagnistica Stago, Asnieres, France)를 이용하여 Clauss 방법으로, protein C activity는 stachrome protein C (Diagnostra Stago, France)를 사용하여 synthetic chromogenic substrate method로 측정하였다. thrombin-antithrombin III complex (TAT)와 plasmin-α_2-plasmin inhibitor complex (PIC)의 농도는 각각 Enzygonost-TAT kit, Enzygonost-PIC kit (Behring-werke, Marburg, Germany)를 이용하여 ELISA 방법으로 측정하였다.

4. 자료의 분석 및 통계 처리

통계적 분석은 SPSS for windows 프로그램 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 이용하였으며 모든 결과는 평균값±표준오차로 표시하였다. 당뇨병군과 대조군

Table 1. Characteristics of Diabetic Patients According to Vascular Complications

Variables	angiopathy absent	microangiopathy	macroangiopathy	combined	All Diabetes
Number	16	56	9	20	101
Age (year)	49.9±16.6	58.9±13.6	62.4±13.0	68.8± 6.8*	57.9±14.1
BMI (kg/m^2)	24.1±3.4	22.4±3.4	24.1±1.8	24.5±3.5	23.2±3.4
DM duration (year)	3.9±5.4	13.0±10.1*	8.4±7.2	10.7±6.3	10.7±9.1
HbA_{1c} (%)	10.1±3.6	9.6±3.4	8.5±1.6	8.1±1.7	9.3±3.1
Fasting glucose (mg/dL)	222.9±76.6	203.3±87.5	160.8±57.6	184.2±57.3	198.8±79.1
Fasting insulin (μU/mL)	14.0±7.6	14.9±22.3	11.5±4.9	19.2±9.7	15.4±17.2
Fasting C-peptide (ng/mL)	2.9±1.3	2.1±1.0	2.5±1.0	3.1±2.4	2.5±1.5
Systolic BP (mmHg)	125.3±25.6	135.9±24.2	120.0±15.0	138.0±30.0	133.3±25.4
Diastolic BP (mmHg)	81.3±16.8	81.5±14.6	74.4±13.3	88.0±17.0	82.1±15.5
Serum Cr (mg/dL)	0.9±0.1	1.3±1.5	0.8±0.2	1.5±1.0	1.2±1.2
Total cholesterol (mg/dL)	209.4±74.7	191.3±43.3	199.0±32.6	171.8±47.4	191.0±50.2
Triglyceride (mg/dL)	154.8±80.1	156.8±94.9	151.4±34.7	138.9±82.1	152.6±85.5
HDL-cholesterol (mg/dL)	43.8±13.1	40.4±12.9	37.6±7.5	39.1±13.0	40.3±12.5
Lp (a) (mg/dL)	30.7±19.0	23.8±22.0	21.0±10.6	46±62.0	28.6±32.8

Values are mean ± SD.
*: $p<0.05$ vs angiopathy absent
†: $p<0.05$ vs microangiopathy
aPTT: activated partial thromboplastin time
PT: prothrombin time
combined: microangiopathy + macroangiopathy

사이의 비교는 Student's independent t-test를 시행하였고, 각 군간의 비교는 ANOVA test를 이용하였고, 각 인자들간의 연관관계는 Pearson linear correlation을 이용하여 비교 분석하였다. 유의수준은 $p<0.05$로 하였다.

결 과

1. 대상군의 임상적 특성

환자의 분포를 살펴보면 당뇨병 환자군 101명과 정상 대조군 20명을 대상으로 하여 당뇨병 환자군 중에서 혈관합병증이 있는 군은 85명, 혈관합병증이 없는 군은 16명이었고, 평균연령은 각각 57.9±14.1세, 49.9±16.6세로 혈관합병증이 있는 군에서 더 나이가 많았고, 체질량지수는 23.2±3.4 kg/m^2, 24.1±3.4 kg/m^{2}로 두 군간 유의한 차이는 없었다. 또 두 군간의 혈압 및 HbA_{1c}, 공복혈당 및 인슐린과 C-peptide, 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤, Lp (a)는 유의한 차이가 없었고, 미세혈관합병증이 있는 군에서 당뇨병의 유병기간이 길었다. 대상자의 임상검사 소견은 Table 1에 표시하였다.

2. 혈장 thrombin-antithrombin III complex (TAT) 및 plasmin-α_2-plasmin inhibitor complex (PIC) 농도와 당뇨병과의 관계

TAT 및 PIC의 농도는 정상 대조군에서는 2.8±1.2 ng/mL, 240.4±69.7 ng/mL이었고, 당뇨병 환자군에서는 9.5±22.6 ng/mL, 472.2±258.7 ng/mL이었다. TAT와 PIC 모두 당뇨병 환자군에서 정상 대조군에 비해 유의하게 증가되어 있었고 ($p<0.001$), TAT/PIC ratio

Table 2. Comparisons of Plasma TAT and PIC Levels Between Control and Diabetic Patient Group

	Control group	Diabetic patient group	p
TAT (ng/mL)	2.8±1.2	9.5±22.6	<0.001
PIC (ng/mL)	240.4±69.7	472.2±258.7	<0.001
TAT/PIC×10^3	12.3±4.4	24.9±73.5	0.09

*: Values are mean±SD.

Table 3. Hemostatic Markers in Diabetic Patients According to Vascular Complications

Variables	angiopathy absent	microangiopathy	macroangiopathy	combined	All Diabetes
TAT (ng/mL)	4.1±2.4	5.3±4.1	6.0±4.9	10.4±6.7*†	6.2±5.0
PIC (ng/mL)	362.2±272.0	529.5±258.7*	507.4±321.6	484.8±269.7	492.4±270.4
aPTT (sec)	37.4±3.0	36.3±5.4	36.1±5.0	35.4±4.4	36.3±4.8
PT (sec)	12.8±0.7	12.9±0.8	13.0±1.0	13.3±0.8	13.0±0.8
Fibrinogen (mg/dL)	322.7±102.4	374.9±106.2*	427.1±194.7	388.4±132.4	373.6±121.0
Protein-C (%)	116.0±23.0	99.4±25.5	106.9±21.7	102.3± 31.2	103.4±26.0

Values are mean±SD.
*: p<0.05 vs angiopathy absent
†: p<0.05 vs microangiopathy

는 두 군간 차이가 없었다 (p=0.09) (Table 2).

혈관 합병증과의 관계: 당뇨병 환자의 혈관합병증에 따른 TAT 및 PIC, fibrinogen 농도는 합병증이 없는 군은 각각 4.1±2.4 ng/mL, 362.2±272.0 ng/mL, 322.7±102.4 mg/dL이었고, 미세혈관 합병증군은 각각 5.3±4.1 ng/mL, 529.5±258.7 ng/mL, 374.9±106.2 mg/dL으로 PIC와 fibrinogen의 증가를 보였으나, 연령을 보정한 후에는 통계학적 유의성은 없었다. 또 대혈관 합병증군에서는 각각 6.0±4.9 ng/mL, 507.4±321.6 ng/mL, 427.1±194.7 mg/dL이었으며 미세대혈관 합병증군에서는 10.4±6.7ng/mL, 484.8±269.7 ng/mL, 388.4±132.4 mg/dL으로 TAT의 증가를 보였으나 역시 연령을 보정한 후에는 통계학적 유의성은 없었다 (Table 3).

당조절 정도와의 관계: 미세혈관합병증군에서 HbA_{1c} (>8%)가 높은 군의 PIC 농도가 유의하게 높았고 (p=0.049), 대혈관합병증군에서 HbA_{1c} (>8%)가 높은 군의 총 콜레스테롤 농도가 유의하게 높았다 (p=0.042) (Table 4).

다른 인자와의 상관관계: 총 당뇨병 환자군에서 PIC는 fibrinogen과 HbA_{1c}와 양의 상관관계를, BMI와 음의 상관관계를 보였으며 (r=0.47, 0.31, -0.25), 혈관 합병증이 없는 당뇨병 환자군에서만 TAT는 HbA_{1c}와 양의 상관관계를 보였다 (r=0.67) (Table 5).

고 찰

당뇨병의 만성 합병증은 당뇨병에 특이적인 당뇨병성 망막증, 신경병증, 신증 등의 미세혈관 합병증과 죽상경화증에 의한 관상동맥질환, 뇌혈관질환 및 말초혈관질환 등과 같은 대혈관 합병증으로 구분할 수 있다. 당뇨병 환자에서 죽상경화는 광범위하고 빠르게 나타

Table 4. Comparisons of Plasma TAT and PIC and Fibrinogen Levels According to HbA_{1c} Level in Diabetic Patients

Variables	angiopathy absent	microangiopathy	macroangiopathy	combined	All Diabetes
TAT (ng/mL)					
$HbA_{1c} \leq 8$	3.3±2.9	12.1±38.2	22.0±31.2	18.6±17.5	13.3±31.0
> 8	7.8±9.5*	5.3±4.6	5.9±6.4	5.6±2.5	5.8±5.8
PIC (ng/mL)					
$HbA_{1c} \leq 8$	386.9±350.6	464.5±181.9	267.3±111.3	514.1±306.2	431.8±219.8
> 8	304.0±187.8	613.0±310.4*	592.4±374.	367.9±16.1	527.4±308.4
Fibrinogen (mg/dL)					
$HbA_{1c} \leq 8$	355.3±144.1	372.3±92.0	438.3±195.7	399.3±146.0	365.6±111.0
> 8	271.3±45.0	388.6±113.7	420.4±216.9	350.5±132.2	370.1±126.5
T.cholesterol (mg/dL)					
$HbA_{1c} \leq 8$	190.8±25.3	196.8±41.6	184.3±7.5	159.0±41.0	195.0±46.2
> 8	221.2±98.6	186.7±45.3	214.8±36.4*	223.0±55.2	202.2±61.4

Values are mean±SD.
*: $p<0.05$ vs $HbA_{1C} \leq 8$

Table 5. Correlation Coefficients(r) Among TAT and PIC and Other Hemostatic and Clinical Markers in Diabetic Patients

test	TAT	PIC	Fibrinogen	Protein-C	Lp(a)	Age	DM Hx.	BMI	HbA1c	C-pep	T.chol	TG
TAT		0.05	-0.08	0.18	-0.0	0.13	-0.07	0.06	-0.02	-0.01	0.06	0.00
PIC	0.05		0.47†	0.20	-0.02	0.28†	0.22*	-0.25*	0.31†	-0.07	-0.19*	-0.24*
Fibrinogen	-0.08	0.47†		-0.26*	0.20	0.25*	0.13	-0.09	0.09	0.04	-0.15	0.05
Protein-C	0.18	-0.20	-0.26*		0.20	-0.43†	-0.36†	0.29*	0.07	0.14	0.42†	0.43†
Lp(a)	-0.06	-0.02	0.20	-0.02		0.04	0.18	-0.06	-0.05	0.15	0.09	-0.15
Age	0.13	0.28*	0.25*	-0.43†	0.04		0.46*	0.00	-0.30†	0.04	-0.34†	-0.32†
DM Hx.	-0.07	0.22*	0.13	-0.36†	0.18	0.46†		-0.22	-0.29†	-0.14	-0.08	-0.18*
BMI	0.06	-0.25*	-0.09	0.29†	-0.06		-0.22*		-0.14	0.44†	0.12	0.08
HbA_{1c}	-0.02	0.31*	0.09	0.07	-0.05	-0.30†	-0.29†	-0.14		-0.16	0.09	0.03
C-peptide	-0.01	-0.07	0.04	0.14	0.15	0.04	-0.14	0.44†	-0.16		0.17	-0.07
T.chol	0.06	-0.19*	-0.15	0.42†	0.09	-0.34†	-0.08	0.12	0.09	0.17		0.36†
TG	0.00	-0.24*	0.05	0.43†	-0.15	-0.32†	-0.18*	0.08	0.03	-0.07	0.36	

*: correlation is significant at the 0.05 level
†: correlation is significant at the 0.01 level

나는 경향을 보이는데 그 기전으로 고혈당, 지질대사 이상, 고인슐린혈증, 고혈압, 혈액 응고 기전의 변화 및 여러 사이토카인과 혈관 활성 호르몬 등의 여러 원인에 의한 것으로 알려져 있으며 응고항진이나 섬유소 용해능의 저하 역시 중요한 요인으로 생각되고 있다. 현재 당뇨병 환자에서 이러한 혈관합병증이 생기는 기

전에 대한 다각적인 연구가 진행되고 있으나 아직 정확하게 규명되지 않은 상태이다.

Thrombin-antithrombin Ⅲ complex (TAT)는 혈액응고 과정의 진행으로 활성화된 thrombin과 그의 생리적 억제 인자인 antithrombin-Ⅲ가 acyl 복합체를 이룬 것으로, 이는 응고 반응에서 생성된 thrombin 농도를 예민하게 반응하여 응고 항진 상태를 조기에 알아 볼 수 있는 지표로 알려져 있다[5,6].

섬유소 용해계는 섬유소 용해의 주 단백 분해 효소인 plasmin과 전구체 plasminogen, urokinase-type plasminogen activator, tissue-type plasminogen activator로 이루어져 있다[7]. 일반적으로 효소 활성이 없는 plasminogen이 혈중을 순환하다가 세포 표면상의 수용체에 결합되면 혈관 내피세포에서 tissue-type plasminogen activator (t-PA)가 분비되어 N-terminal glutamic acid plasminogen을 N-terminal lysine plasminogen으로 변형시킴으로써 활성형 효소인 plamin으로 생성되어[8,9] fibrinolysis에 관여하게 된다. plasmin inhibitor에는 α_2-antiplasmin과 α_2-macroglobulin이 있으며 plasminogen activator inhibitor에는 type 1과 type 2가 있다. PIC는 plasmin과 α_2-plasmin inhibitor complex인데 순환 혈장 내의 거의 모든 plasmin은 즉시 α_2-plasmin inhibitor와 복합체를 형성하게 되므로 혈중에서 생긴 유리형 plasmin의 검출은 사실상 불가능하며, 혈중 반감기가 12시간이고 간기능의 영향을 거의 받지 않는 PIC를 측정하는 것이 plasmin의 동태를 파악하는 지표가 된다. t-PA는 PAI-1 또는 α_2-antiplasmin과 복합체를 이룸으로써 비활성화 되고 이러한 비활성형은 혈중 t-PA 항원량의 50~99%를 차지한다[10]. Plasmin은 collagen, laminin, fibronectin, elastin, vitronectin, fibrinogen 등 세포외 기질 (extracellular matrix)을 분해하는 기능을 갖고 있어 배란, 배아 생성, 신경 성장, 근육 재생, 상처 치유, 신생 혈관 생성, 종양의 확산과 침습 등에 관여하는데[11], 당뇨병에 있어서는 type Ⅳ collagen으로 구성된 capillary basement membrane의 비후에 역할을 하게 되어 당뇨병성 미세 혈관 합병증에 기여할 수 있다[12]. 당뇨병 환자와 정상인과의 섬유소 용해능의 비교에 대한 연구가 많이 시행되고 있으며 정상인에 비하여 저하되어 있다는 보고가 있는 반면[13,14], 차이가 없거나 증가되었다는 보고들도 있다. 예를 들면, Garcia[15] 등은 당뇨 환자에서 PAI-1의 증가와 여러 생리적 자극에 대한 섬유소 용해능의 반응의 저하가 혈관 질환을 일으키는데 관여한다고 하였고, Cash[14] 등은 당뇨병 환자에서 상대적인 응고항진성 (hypercoagulability)에 대한 생리학적 반응으로 인하여 정상인보다 t-PA가 높다고 보고하였다. 또한 당뇨 환자 중에서 당뇨병성 망막증의 합병증이 있는 군과 없는 군을 비교한 연구에서 망막 병변이 있는 군이 섬유소 용해능이 저하되어 있었다고 보고하였다[16].

본 연구에서는 TAT와 PIC 모두 당뇨병 환자군에서 정상 대조군에 비해 유의하게 증가되어 있어 당뇨병 환자에서 혈액응고항진 및 용해의 장애가 동반되어 있다고 볼 수 있으며, 혈관합병증이 없는 군에 비해 미세혈관 합병증군에서 PIC의 증가와 미세·대혈관 합병증군에서 TAT의 증가를 보였으나 연령을 보정한 후에는 통계학적 유의성이 없었던 점은 Kastumi 등[17]이 심혈관질환의 위험인자 (고혈압, 이상지혈증, 당뇨병, 비만 등)보다 연령이 혈액응고/용해 인자에 미치는 영향이 더욱 강력하다고 발표한 내용과 일치하면서 연령의 증가와 유병기간이 길수록 혈액응고항진 및 용해의 장애에 큰 역할을 함을 확인할 수 있었다. 한편, 미세혈관합병증 당뇨병 환자군에서 HbA_{1c} (>8%)가 높은 군의 PIC농도가 유의하게 높았으며, 혈관 합병증이 없는 당뇨병 환자군에서만 TAT는 HbA_{1c}와 양의 상관관계를 보인 점에서 DCCT 및 UKPDS 등의 연구에서와 같이 당뇨병성 미세혈관합병증의 경우에서는 혈당조절의 중요성을 강조 할 수 있겠으며, Isao[18] 등이 당뇨병성 합병증이 이미 발생한 군에서는 thrombin의 생성에 혈당 조절 이외의 다른 요인을 제시하였던 것처럼 TAT 농도는 혈당 조절 이외에도 여러 사이토카인과 혈관 활성 호르몬 등의 역할을 유추해 볼 수 있겠다.

간에서 생성되는 섬유소원은 다른 위험인자와 함께 죽상경화반 발생에 중요하게 작용하며 섬유소원의 상승은 섬유소 생성을 증가시키고 교차된 섬유소는 혈소판 응집을 촉진시키고 혈장의 점도를 높여[19,20] 뇌졸중과 심혈관계 사망률에 영향을 미친다고 알려져 왔다[21].

Protein C는 vitamin K-의존 단백으로 thrombin-thrombomodulin complex에 의해 활성화되어 활성 C 단백이 되며 이렇게 생성된 활성 C 단백은 protein S를 조효소로 하여 선택적으로 혈액응고인자 V와 VIII을 불활성화하여 혈액응고를 억제하며 plasminogen activator inhibitor를 억제함으로써 섬유소 용해기능을 항진시켜 정상인에서 항응고 상태의 평형을 유지하는 중요인자로 알려져 있다[22].

본 연구의 당뇨병 환자의 혈액응고/용해 장애와 연관된 인자 중에서, fibrinogen과 PIC와의 양의 상관성은 fibrinogen 증가에 따른 plasmin 증가를 의미하는 것으로 생각해 볼 수 있겠으며, fibrinogen과 protein-C의 음의 상관성은 protein-C의 기능[23]을 측정해 보아서 혈액 응고 장애에 기여하는지 연구가 필요할 것으로 생각되며 한편, PIC와 BMI와의 음의 상관성에 대해서는 Sakkinen 등[24]이 마찬가지로 음의 상관성을 주장하였으나 현재까지는 자료가 많지 않은 상태이며, 여러 사이토카인 등을 고려한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이상의 결과에서 당뇨병 환자에서의 혈액응고 및 용해의 장애의 기전으로는 고혈당으로 인한 혈장 단백질들의 비효소성 당화 작용이나 여러 사이토카인과 혈관 활성 호르몬 등과 산화성 스트레스로 인한 유리 라디칼의 작용으로 생각되고 있으며[25], 혈장 TAT 및 PIC는 혈관합병증으로의 진행을 예측하는 지표로서 유용하리라 생각된다. 또한 혈당조절정도와 상관성이 있으므로 연령을 보정한 환자들을 대상으로 하여 혈당조절 후에 추적검사를 시행하여 합병증의 예방이 가능한지 추후 연구가 필요하리라 생각된다.

요 약

연구배경: 당뇨병 환자에서 혈액응고 및 섬유소용해 체계의 이상경향이 있어 그 결과로 여러 혈관합병증의 발생위험이 높다는 사실은 널리 알려져 있다. 그 기전은 아직 확실히 밝혀지지 않았으나, 고혈당으로 인한 혈장 단백질들의 비효소성 당화작용이나 산화성 스트레스로 인한 유리 라디칼의 작용으로 응고항진이나 섬유소용해 활성의 저하를 유발하는 것으로 생각되고 있다. 최근 응고 및 용해인자와 그 억제자의 복합체들의 증가가 이 상태를 비교적 예민하게 반영한다고 알려져 있다.

방법: 본 연구에서는 당뇨병 환자 101명과 정상 대조군 20명에서 혈장내 thrombin-antithrombin complex (TAT)와 plasmin-α_2-plasmin inhibitor complex (PIC)를 측정하여 비교하고, 당뇨병 환자에서 미세혈관 합병증과 대혈관합병증의 유무에 따른 차이와, 이미 혈관 질환의 위험인자로 알려져 있는 인자들간의 상관성을 알아보고자 하였다.

결과: 1. 환자의 분포를 살펴보면 혈관합병증이 있는 군은 85명, 혈관합병증이 없는 군은 16명이었고, 평균연령은 각각 57.9±14.1세, 49.9±16.6세로 혈관합병증이 있는 군에서 더 나이가 많았고, 체질량지수는 23.2±3.4 kg/m^2, 24.1±3.4 kg/m^{2}로 두 군간 유의한 차이는 없었다. 또 두 군간의 혈압 및 HbA_{1c}, 공복혈당 및 인슐린과 C-peptide, 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤, Lp (a)는 유의한 차이가 없었고, 미세혈관합병증이 있는 군에서 당뇨병의 유병기간이 길었다.

2. TAT 및 PIC의 농도는 정상 대조군에서는 2.8±1.2 ng/mL, 240.4±69.7 ng/mL이었고, 당뇨병 환자군에서는 9.5±22.6 ng/mL, 472.2±258.7 ng/mL이었다. TAT와 PIC 모두 당뇨병 환자군에서 정상 대조군에 비해 유의하게 증가되어 있었고 ($p<0.001$), TAT/PIC ratio는 두 군간 차이가 없었다.

3. 당뇨병 환자의 혈관합병증에 따른 TAT 및 PIC, fibrinogen 농도는 합병증이 없는 군은 각각 4.1±2.4 ng/mL, 362.2±272.0 ng/mL, 322.7±102.4 mg/dL이었고, 미세혈관 합병증군은 각각 5.3±4.1 ng/mL, 529.5±258.7 ng/mL, 374.9±106.2 mg/dL으로 PIC와 fibrinogen의 증가를 보였으나, 연령을 보정한 후에는 통계학적 유의성은 없었다. 또 대혈관 합병증군에서는 각각 6.0±4.9 ng/mL, 507.4±321.6 ng/mL, 427.1±194.7 mg/dL이었으며 미세·대혈관 합병증군에서는 10.4±6.7 ng/mL, 484.8±269.7 ng/mL, 388.4±132.4 mg/dL으로 TAT의 증가를 보였으나 역시 연령을 보정한 후에는 통계학적 유의성은 없었다.

4. 미세혈관합병증군에서 HbA_{1c} (>8%)가 높은 군

의 PIC 농도가 유의하게 높았고 (p=0.049), 대혈관합병증군에서 HbA_{1c} (>8%)가 높은 군의 총 콜레스테롤 농도가 유의하게 높았다 (p=0.042).

5. 총 당뇨병 환자군에서 PIC는 fibrinogen과 HbA_{1c}와 양의 상관관계를, BMI와 음의 상관관계를 보였으며 (r=0.47, 0.31, -0.25), 혈관 합병증이 없는 당뇨병 환자군에서만 TAT는 HbA_{1c}와 양의 상관관계를 보였다 (r=0.67).

결론: 이상의 결과에서 혈장 TAT 및 PIC 농도는 당뇨병 환자에서 정상 대조군에 비해 의미있게 증가되어 있었고, 당뇨병 환자군에서는 연령의 증가와 유병기간이 혈액응고항진 및 용해의 장애에 큰 역할을 함을 알 수 있었으며, 총 당뇨병 환자군에서 PIC와 HbA_{1c}와 양의 상관관계를, BMI와 음의 상관관계를 보였으며 혈관 합병증이 없는 당뇨병 환자군에서만 TAT는 HbA_{1c}와 양의 상관관계를 보였다. 따라서 당뇨병 환자에서 혈액응고 및 용해의 장애가 동반되어 있다고 볼 수 있으며, 혈장 TAT 및 PIC는 혈관합병증으로의 진행을 예측하는 지표로서 유용하리라 생각된다. 또 혈당조절정도와 상관성이 있으므로 혈당조절 후에 추적검사를 시행하여 합병증의 예방이 가능한지 추후 연구가 필요하리라 생각된다.

참 고 문 헌

1. Kannel WB, McGee DL: *Diabetes and cardiovascular disease - the Framingham study. J Am Med Asso 241:2035-2038, 1979*
2. Standle E, Stiegler H, Kanka HU, Mehnert H: *Risk profile of macrovascular disease in diabetes mellitus. Diabetes and metabolism 14:505, 1988*
3. Collen D, Juhan-Vague I: *Fibrinolysis and atherosclerosis. Seminars in Thrombosis & Hemostasis 14:180-3, 1988*
4. Hamsten A, Walldius G, Szamosi A, Blomback M, De Faire U, Dahlen G, Landou C, Wiman B: *Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. Lancet 2:3-9, 1987*
5. Pelzer H, Schwarz A,Heimburger N: *Determinatuin of human thrombin-antithrombin III complex in plasma with an enzyme-linked immunosorbent assay Thromb Haemost 59:101-106, 1988*
6. 송경순, 이삼열: *DIC* 진단을 위한 *thrombin-antithrombin (TAT)* 검사에 대한 고찰. 대한 임상병리 학회지 *9:433-437, 1989*
7. Kwaan HC: *The biologic role of components of the plasminogen-plasmin system. Prog Cardiovasc Dis 34:309-16, 1992*
8. Hajjar KA, Nachman RL: *Endothelial cell-mediated conversion of Glu-plasminogen to Lys-plasminogen. J Clin Invest 82:1769-78, 1988*
9. Miles LA, Plow EF: *Plasminogen receptors: ubiquitous sites for cellular regulation of fibrinolysis. Fibrinolysis 2:61-71, 1988*
10. Sprengers ED, Kluft C: *Plasminogen activator inhibitors. Blood 69:381-387, 1987*
11. Hau C. Kwaan: *Changes in blood coagulation, platelet function, and plasminnogen-plasmin system in Diabetes. Diabetes 41(Suppl 2):32-35, 1992*
12. Miskn R, Levinger S: *Diabetic mice expressing transgenic urokinase in the retina: limited thickening of retinal capillary basement membrane. On Proc Int Workshop on molecular and Cellular Biology of Plasminogen activation, Elsinore, Denmark 71, 1991*
13. Garcia Frade LJ, de la Calle H, Alava I, Navarro JL, Creighton LJ, Gaffney PJ: *Diabetes mellitus as a hypercoagulable state: its relationship with fibrin fragments and vascular damage. Tromb Res 47:533-540, 1987*
14. Cash JD, McGill RC: *Fibrinolytic response to moderate exercise in young male diabetics and non- diabetics. J Clin Pathol 22:32-35, 1969*
15. Garcia Frade LJ, de la Calle H, Torrado MC, Lara JI: *Hypofibrinolysis associated with vasculopathy in non insulin dependent diabetus*

mellitus. Thromb Res 59:51-59, 1990

16. Takada Y, Urano T, Watanabe I, Taminato A, Yoshimi T, Takada A: *Changes in fibrinolytic parameters in male patients with type 2 diabetes mellitus. Thromb Res 71:405-15, 1993*
17. Katsumi D, Akira D, Hideo W, Seiko M: *Study of Cardiovascular Risk Factors and Hemostatic Molecular Markers in Elderly Persons. Seminars in Thrombosis and Hemostasis 26:23-27, 2000*
18. Isao A, Katsuya S, Nobuco A, Masashi H, Atsui Y, Kazuhiko N, Yohko K, Shin-Ichi K, Kyozo I: *Platelet-dependent Thrombin Generation in Patients with Diabetes Mellitus: Effects of Glycemic Control on Coagulability in Diabetes. JACC 27:560-6, 1996*
19. Margueie G, Plow E and Ediginton T: *Human platelets possess an inducible and saturable receptor specific for fibrinogen. J Biol Chem 254:5537-63, 1979*
20. Letcher RL, Chien S and Pickering TG: *Direct relationship between blood pressure and blood viscosity in normal and hypertensive subjects. Role of fibrinogen and concentration. Am J Med 70:1195-202, 1981*
21. Lee AJ, Lowe GD, Woodward M, Tunstall-Pedoe H: *Fibrinogen in relation to personal history of prevalent hypertension, diabetes, stroke, intermittent claudication, coronary heart disease, and family history: The Scottish Heart Health Study. Birt Ht J 69:338-342, 1993*
22. Bajzar L, Fredenburgh JC, Nesheim M: *The activated protein C-mediated enhancement of tissue-type plasminogen activator induced fibrinolysis in a cell-free system. J Biol Chem 265:16948-54, 1990*
23. Juhan-Vague I, Alessi MC, Vague P: *Increased plasma plasminogen activator inhibitor 1 levels. A possible link between insulin resistance and atherothrombosis. Diabetologia 34:457-62, 1991*
24. Sakkinen Pamela A, Cushman M, Kuller L, Psaty Bruce M, Beatriz L, Boineau R, Tracy Russell P: *Correlates of Plasmin-alpha2-Antuplasmin in Two Elderly Cohorts. Circulation 96:100 1997*
25. A Ceriello: *Coagulation activation in diabetes mellitus: the role of hyperglycaemia and therapeutic prospects. Diabetologia 36:1119-1225, 1993*